

УДК 612.43; 591.147

Пустовалов А. С., Держинський М. Е., Мацюх О. С.,
Дзюбенко Н. В., Фролкіна І. О.

ВПЛИВ ІМУНІЗАЦІЇ ТА ЕПІФІЗУ НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ НЕЙРОЦИТІВ ПАРАВЕНТРИКУЛЯРНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА

Удосліді на 7 титижневих самцях Gallus domesticus показано, що імунізація пригнічує денну синтетичну активність пінеалоцитів та посилює синтетичну активність нейроцитів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса. Епіфіз пригнічує синтетичну активність нейроцитів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса. Екзогенний мелатонін, так само як і епіфізектомія, посилює гуморальну імунну відповідь.

Взаємодії епіфіз - гіпоталамус привертають дедалі більшу увагу дослідників [1]. В обох органах синтезується велика кількість гормонів та гормоноподібних речовин, що здійснюють вплив як на різні частини ендокринної системи, так і на імунну систему. Так гормони епіфіза (зокрема мелатонін) відіграють провідну роль у регуляції репродуктивної системи, надниркових залоз, щитовидної залози. Вагомий вплив мелатонін здійснює на активність імунної системи [2]. У гіпоталамусі синтезуються релізінг-гормони та нейромедіатори, що мають вирішальне значення у визначенні ступеня активності гіпоталамо-гонадної, гіпоталамо-тиреоїдної, гіпоталамо-адреналової, імунної та інших систем. Природно, що системи, на активність яких впливають епіфіз

та гіпоталамус, зі свого боку, здатні змінювати активність цих органів. На жаль, питання взаємодії різних гормонів, нейромедіаторів, факторів імунної системи на сьогоднішній день вивчені ще недостатньо. При цьому більшість досліджень, присвячених даній проблематиці, здійснюється на ссавцях, тоді як досліджень на представниках інших класів хребетних - значно менше. Паравентрикулярне великоклітинне ядро є одним з ключових нейроендокринних центрів гіпоталамуса. Нейроцити паравентрикулярного ядра синтезують цілий ряд гормонів та гормоноподібних речовин, причетних до регуляції не тільки гонадотропної функції, а й тиреотропної, регуляції водно-сольового обміну, адаптації [3]. Саме тому в представленому дослідженні нашу

увагу було зосереджено на взаємозв'язку між функціональною активністю пінеалоцитів епіфіза та нейро секреторних клітин паравентрикулярного ядра гіпоталамуса.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження було проведено на 70 самцях *Gallus domesticus* (породи HyLine) п'ятирічного віку. Птахів утримували в умовах одного виварію, на стандартному раціоні та при режимі освітлення (16L : 8D). Було сформовано 8 експериментальних груп по 8-10 птахів у кожній. Особини контрольної серії становили 1-шу групу. Особини 2-, 4-, 6-, 8-ї груп були імунізовані введенням внутрішньовенно 0,5 мл 10-процентної суспензії еритроцитів людини. Водночас птахи інших груп отримували ін'єкції фізіологічного розчину. Птахи 3-, 4-, 7-, 8-ї груп раз на добу протягом двох тижнів, що передували взяттю матеріалу, отримували мелатонін перорально в дозі 50 мкг/100 г ваги тіла о 18.00. Птахи 5-, 6-, 7-, 8-ї груп були епіфізектомовані в семиденному віці. Наприкінці експерименту птахів декапітували в середині світлової фази доби. Для мікроскопічних досліджень було взято гіпоталамічні ділянки головного мозку та епіфізи. Плазму крові було взято для визначення титру антитіл проти еритроцитів людини. З узятих органів виготовляли гістологічні препарати за загальноприйнятою методою. Зрізи епіфіза фарбували гематоксиліном та еозином. Зрізи гіпоталамічної ділянки мозку фарбували за Гоморі - Габу. Синтетичну активність пінеалоцитів та нейроцитів паравентрикулярного ядра оцінювали на підставі вимірювання площі перетину ядер цих клітин. Вимірювання проводили за допомогою напівавтоматичного цитоаналізатора «Інтеграл-2МТ». Титр антитіл проти еритроцитів людини вимірювали методом прямої гемаглютинації. Статистичну обробку даних проводили методами варіаційної статистики. Різницю між окремими серіями досліду визначали за допомогою критерію Стьюдента. Різницю вважали вірогідною при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати наших досліджень наведено в таблиці, тому зупинимось лише на деяких з них.

Титр антитіл у птахів на сьомий день після імунізації становив $1,3 \pm 0,1$. Ця цифра майже не відрізняється від літературних даних [2,4]. Водночас після введення мелатоніну достовірно

Таблиця. Зміни морфометричних показників функціональної активності епіфіза, паравентрикулярного ядра гіпоталамуса та титру антитіл при імунізації, введенні мелатоніну та епіфізектомії

Група	Площа перетину ядер пінеалоцитів, мкм ²	Площа перетину ядер нейроцитів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, мкм ²	Титр антитіл, log ₂
1 - контроль	35,3 \pm 0,4	32,4 \pm 0,5	-
2 - імунізація	31,1 \pm 0,4*	36,1 \pm 0,7*	1,3 \pm 0,1
3 - мелатонін	35,9 \pm 0,4	32,7 \pm 0,8	-
4 - мелатонін + імунізація	31,9 \pm 0,4*	40,6 \pm 1,0*	2,1 \pm 0,3*
5 - епіфізектомія	-	34,7 \pm 0,9*	-
6 - епіфізектомія + імунізація	-	43,7 \pm 1,5*	2,0 \pm 0,3*
7 - епіфізектомія + мелатонін	-	42,2 \pm 1,1 *	-
8 - епіфізектомія + мелатонін + імунізація	-	43,0 \pm 0,7*	2,1 \pm 0,4*

* $P < 0,05$ по відношенню до контрольної групи

збільшувався титр антитіл. Ці результати узгоджуються з даними інших дослідників, які показали збільшення титру антитіл у птахів при введенні мелатоніну [2]. Водночас титр антитілів після імунізації в епіфізектомованих птахів був явно вищий, ніж у контролі ($2,0 \pm 0,3$). Збільшення титру антитілів після епіфізектомії може викликати подив, оскільки вище було показано, що мелатонін, гормон епіфіза, викликає збільшення титру антитілів (див. таблицю), що можна вважати свідченням активації гуморальної імунної відповіді. Чому ж зниження вмісту мелатоніну теж спричинює аналогічні зміни? Ймовірно, причиною цього є те, що епіфіз не є єдиним джерелом мелатоніну. Серед екстрапінеальних джерел цього гормону поряд з Гардєровою залозою, ретіною та кишечником постає і кістковий мозок [5]. Очевидно, посилення синтезу мелатоніну на локальному рівні у відповідь на видалення епіфіза і спричинило ефект екзогенного мелатоніну на цьому локальному, обмеженому клітинами імунної системи рівні. Зазначимо, що й в інших дослідженнях відмічається неоднозначність ефектів епіфізектомії на імунну систему [6, 7].

Представлені у таблиці результати показують, що між паравентрикулярним ядром та епіфізом існують певні антагоністичні взаємини. Справді, при імунізації, так само як і при поєднанні імунізації і введення мелатоніну, спостерігається зниження синтетичної активності епіфіза і посилення синтетичних процесів у паравентрику-

лярному ядрі. При епіфізектомії спостерігаються найвищі із зафіксованих у нашому експерименті значень розмірів паравентрикулярного ядра, що, можливо, вказує на гальмівний вплив саме епіфіза на паравентрикулярне ядро, який при епіфізектомії, принаймні частково, знімається.

Що викликає особливий інтерес, то це збільшення синтетичної активності нейроцитів паравентрикулярного ядра епіфізектомованих птахів при введенні мелатоніну та імунізації. Можливе пояснення цього феномену полягає в активації імунної системи в цих групах. Як ми бачили вище, мелатонін, так само як і епіфізектомія, активує гуморальний імунітет. Імунізація, що спричинює імунну відповідь, теж може вважатись фактором, який активує імунну систему, в тому числі й до гормональної активності. Справді, під час імунної відповіді клітини імунної системи здатні синтезувати цілий ряд гормонів та гормоноподібних речовин, включно з тими, що подібні або ідентичні нейромедалаторам гіпоталамуса та епіфіза [8]. Зазначимо, що саме імунізація, а не введення мелатоніну, змінювала активність пінеалоцитів та нейроцитів паравентрикулярного ядра. Тобто імунізація може безпосередньо активувати нейроцити паравентрикулярного ядра. Імунізація впливає і на епіфіз, який у свою чергу, як було показано вище, здатен гальмувати синтетичну активність паравентрикулярного ядра.

Про конкретний механізм зазначених впливів поки що казати рано. Однак зауважимо, що

можливість безпосереднього впливу на епіфіз імунної системи після імунізації продемонстровано в дослідженні на *Gallus domesticus* [4]. Щоправда, в тому досліді імунізація спричинювала посилення синтезу мелатоніну в епіфізі, тоді як у нашому дослідженні спостерігається пригнічення синтетичної активності пінеалоцитів після імунізації. Однак імовірно, що представлені дані не суперечать, а доповнюють одне одного. Річ у тім, що ми проводили взяття матеріалу у світлу частину доби, тоді як автори згадуваної статті забій проводили вночі. Відомо, що для епіфіза є характерним добовий ритм гормонпродукуючої активності. Вночі - це в першу чергу синтез мелатоніну, тоді як удень більше синтезується серотонін. Не роблячи остаточного висновку про те, чи відповідає зафіксований нами інтегральний параметр денної синтетичної активності епіфіза «площа перетину ядер пінеалоцитів» синтезу саме серотоніну, чи все ж таки мелатоніну, відзначимо, що імунізація, очевидно, по-різному впливає на синтетичну активність епіфіза вдень та вночі.

Таким чином, імунізація зменшує денну синтетичну активність епіфіза та активує синтетичну активність нейроцитів паравентрикулярного ядра п'ятиденних самців *Gallus domesticus*. Епіфіз здійснює гальмівний вплив на нейроцити паравентрикулярного ядра гіпоталамуса. Екзогенний мелатонін, так само як і епіфізектомія, здатний підсилювати гуморальну імунну відповідь.

1. Держинський М. Е., Барчук Р. О., Варенюк І. М., Пустовалов Л. С., Бузинська Н. О. Епіфізарно-гіпоталамо-гонадні взаємодії в ході статевого дозрівання самців *Gallus domesticus* та *Coturnix coturnix japonica* // Вісник Київського університету імені Тараса Шевченка. Серія: Біологія. - Вип. 33. - К., 2001. - С. 64-66.
2. Moore C. B., Stoper T. D. Effects of lighting conditions and melatonin supplementation on the cellular and humoral immune responses in Japanese quail *Coturnix coturnix japonica* // General and comparative endocrinology. - 2000. - V. 119. - P. 95-104.
3. Tsutsui K., Saigoh E., Ukena K. et al. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2000. - V. 275, № 2. - P. 661-667.
4. Markowska M., Bialecka B., Ciechanowska M., Koter Z.,

Laskowska H., Karkucinska-Wieckowska A., Skwarlo-Sonta M. Effect of immunization on nocturnal NAT activity in chicken pineal gland // Neuroendocrinology Letters. - 2000. - V. 21. - P. 367-373.

5. Conti A., Conconi S., Hertena E. et al. Evidence for melatonin synthesis in mouse bone marrow cells // J. Pineal Res. - 2000. - № 28. - P. 193-202.
6. Nowak J. Z., Zawilska J. B. Melatonin and its physiological and therapeutic properties // Pharm. World Sci. - 1998. - V. 20, № 1. - P. 18-27.
7. Skwarlo-Sonta K. Functional connections between the pineal gland and immune system // Acta neurobiol. Exp. - 1996. - V. 56. - P. 341-357.
8. Акмаев И. Г. Нейроиммуноэндокринология: факты и гипотезы // Проблемы эндокринологии. - 1997. - Т. 43, № 1. - С. 3-9.

Pustovalov A., Dzerzhynsky M., Matsyukh O., Dzubenko N., Frolkina I.

INFLUENCE OF IMMUNISATION AND PINEAL GLAND ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUROCYTES OF HYPOTHALAMIC PARAVENTRICULAR NUCLEUS

*Immunization caused to activate synthetic activity of neurocytes of paraventricular nucleus and suppress synthetic activity of pinealocytes of 5 week old male *Gallus domesticus*. Pineal gland suppresses synthetic activity of neurocytes of paraventricular nucleus. Both exogenous melatonin and pinealectomy caused to activate humoral immune response.*